

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ГАЛКИНА

Анастасия Михайловна

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗ МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ *Enterococcus faecalis* БИМ В-1012

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент А.В. Лагодич

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 58 с, 18 рисунков, 26 таблиц, 49 источников.

МОЛОЧНАЯ КИСЛОТА, ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА, *LACTOBACILLUS*, *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, РЕСТРИКЦИЯ, СТРУКТУРА, ДОМЕН.

Объекты исследования: *Enterococcus faecalis* БИМ В-1012.

Цель работы: получение молекулярно-генетической модели организации и функционирования лактатдегидрогеназ штамма *E. faecalis* БИМ В-1012, пригодной для отработки приемов повышения его биотехнологического потенциала как продуцента молочной кислоты.

Методы исследования: микробиологические – культивирование целевых штаммов; молекулярно-генетические – выделение и очистка ДНК; трансформация; рестрикционный и электрофоретический анализ; ПЦР, молекулярное клонирование, биоинформационный анализ – моделирование пространственных структур белков, определение их свойств.

По ходу работы получены продукты амплификации генов лактатдегидрогеназ для штамма *E. faecalis* БИМ В-1012 и его мутантных вариантов, которые были верифицированы посредством ПДРФ- и сиквенс-анализа.

В результате ПДРФ – анализа было обнаружено новое аллельное состояние гена лактатдегидрогеназы 1-го типа, характеризующееся отличным электрофоретическим профилем при использовании рестриктаз *MluI* и *SspI*.

Для кислотоустойчивого варианта штамма *E. faecalis* БИМ В-1012 М4 показано изменение нуклеотидной последовательности гена *ldg2*, выявляемое при помощи рестриктазы *EcoRI*.

При сравнении полученных последовательностей видно, что белки LDG1 и LDG2 сходны в общей организации, в то время как гены *ldg1* и *ldg2* имеют низкую степень гомологии нуклеотидных последовательностей - 44 %

Было выяснено, что по пространственной структуре белки LDG1 и LDG2 представляют собой гомотетрамеры и имеют цитоплазматическую локализацию в клетке.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 58 с, 18 малюнкаў, 26 табліц, 49 крыніц.

МАЛОЧНАЯ КІСЛАТА, ЛАКТАТДЭГІДРАГЕНАЗА,
LACTOBACILLUS, ENTEROCOCCUS FAECALIS, РЭСТРЫКЦЫЯ,
СТРУКТУРА, ДАМЕН.

Аб'екты даследавання: *Enterococcus faecalis* БІМ В-1012

Мэта работы: атрыманне малекулярна-генетычнай мадэлі арганізацыі і функцыянавання лактатдэгідрагеназ штама *E. faecalis* БІМ В-1012, прыдатнай для адпрацоўкі прыёмаў павышэння яго біятэхналагічнага патэнцыялу як прадукцэнта малочнай кіслаты.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя - культываванне мэтавых штамаў; малекулярна-генетычныя - выдзяленне і ачыстка ДНК; трансфармацыя; рэстрыцыйны і электрофарэтычны аналіз; ПЛР, малекулярнае кланаванне, біяінфармацыйны аналіз - мадэляванне прасторавых структур бялкоў, вызначэнне іх якасцяў.

На працягу даследавання былі атрыманыя прадукты ампліфікацыі генаў лактатдэгідрагеназ для штама *E. faecalis* БІМ В-1012 і яго мутантных варыянтаў, якія былі верыфікаваныя пры дапамозе ПДРФ- і сиквенс-аналіза.

У выніку ПДРФ - аналіза быў выяўлены новы алельны стан гена лактатдэгідрагеназы 1-га тыпу, які характарызуецца адрозненнямі ў электрофарэтычным профілі пры выкарыстанні рэстрыктаз MluI і SspI.

Для кіслатоустойлівага варыянта штама *E. faecalis* БІМ В-1012 М4 паказана змена нуклеатыднай паслядоўнасці гена *ldg2*, якая выяўляецца пры дапамозе рэстрыктазы EcoRI.

Пры параўнанні атрыманых паслядоўнасцяў бачна, што бялкі LDG1 і LDG2 падобныя ў агульнай арганізацыі, у той час як ступень падабенства нуклеатыдных паслядоўнасцяў генаў *ldg1* і *ldg2* складае ўсяго 44 %.

Было высветлена, што па прасторавай сруктуры бялкі LDG1 і LDG2 уяўляюць сабой гоматэтрамеры і маюць цытаплазматычную лакалізацыю ў клетцы.

ABSTRACT

The diploma work: Number of pages –58, figures –18, tables –26, sources used – 49.

LACTIC ACID, LACTATE DEHYDROGENASE, LACTOBACILLUS, ENTEROCOCCUS FAECALIS, RESTRICTION, STRUCTURE DOMAIN.

Research object: *Enterococcus faecalis* BIM B-1012.

Aim of research: To obtain the molecular-genetic model of organization and functioning of lactate dehydrogenase produced by the *E. faecalis* BIM B-1012 strain suitable for developing the methods resulting in enhancing of the biotechnological potential of the strain as a producer of lactic acid.

Research methods: microbiology - cultivation of the target strains; molecular genetic - isolation and purification of DNA; transformation; restriction and electrophoretic analysis; PCR, molecular cloning, bioinformatic analysis - modeling the spatial structure of proteins, determining the properties.

During the work period the products of the lactate dehydrogenase gene amplification were obtained from the strain of *E. faecalis* BIM B-1012 and its mutated variants, which then were verified by RFLP - and sequence analysis.

As a result of RFLP - analysis a new gene allele status of lactate dehydrogenase type 1 was discovered, characterized by the distinct electrophoretic profile while using the MluI and SspI restriction enzymes.

For the acid-resistant variant of the *E. faecalis* BIM B-1012 M4 strain it was revealed the alteration of the *ldg2* gene nucleotide sequence, detectable by using the restriction enzyme EcoRI.

The comparing of these sequences showed that the LDG1 and LDG2 proteins were similar in the overall organization, whereas the *ldg1 ldg2* genes organization showed only 44% similarity in the amino acid composition. While scrutinizing the LDG1 LDG2 proteins the homotetrameric spatial structure and cytoplasmic cell localization of the proteins were detected.